

NEUE TETRAZYKLISCHE, POLYFUNKTIONELLE DITERPENOIDE AUS EUPHORBIA MYRSINITES L.
RÖNTGENSTRUKTURANALYSE UND STEREOCHEMIE DES 14-DESOXO-14 β -HYDROXYMYRSINOLS ⁺)

Marina Rentzea⁺⁺), E. Hecker

Institut für Biochemie, Deutsches Krebsforschungszentrum,
Im Neuenheimer Feld 280, D-6900 Heidelberg, FRG
und

H. Lotter

Institut für pharmazeutische Biologie der Universität München,
Karlstr. 29, D-8000 München 2, FRG

Summary Two groups of new polyfunctional diterpenes were isolated from *E. myrsinites* L. The hitherto unknown irritant and cocarcinogenic esters M_2 and M'_2 of the tetracyclic, polyfunctional diterpene ingenol and six non-irritant mixtures of esters M_1 , M_3 - M_5 , M_7 , and M_8 of a new polyfunctional diterpene called myrsinol. Their structures and stereochemistry were established.

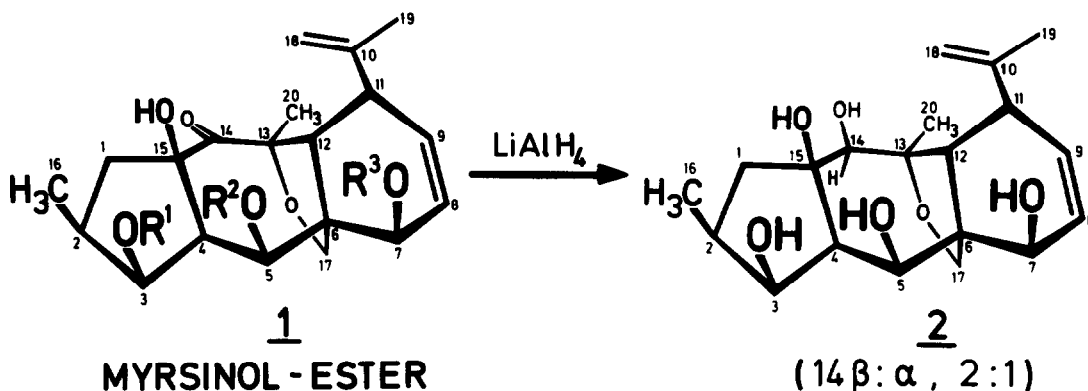
Wegen der verbreiteten Nutzung von *E. myrsinites* L. als Zierpflanze wurden Samen und frische, ganze Pflanzen im Hinblick auf diterpenoide Inhaltsstoffe vom Typ der Cocarcinogene (1) oder vom Typ potentieller Tumorphilatoren (2) untersucht (3). Mit Hilfe von vielstufigen multiplikativen Verteilungen (4), kombiniert mit chromatographischen Trennungen, wurden zwei Gruppen von Diterpenoiden isoliert (3,5).

Die erste Gruppe besteht aus zwei neuen, irritierend und tumorpromovierend wirkenden Estern des tetrazyklischen, polyfunktionellen Diterpens Ingenol (6), den Euphorbiafaktoren M_2 und M'_2 . M_2 ist das 3-O-Deka(2'Z,4'E)-dienoylingenol (M^+ 498,2979, $C_{30}H_{42}O_6$, IR(KBr) 1730, 1640, 1605 cm^{-1} ; UV(CH_3OH) $\lambda_{max}(\epsilon)$ 196,265nm (17000; 17700)) und M'_2 das entsprechende 20-Acetat, 20-O-Acetyl-3-O-deka(2'Z,4'E)-dienoylingenol (M^+ 540). M'_2 repräsentiert den Strukturtyp kryptischer Tumorphilatoren (1,5). Die IR- und UV-Spektren von M'_2 sind weitgehend identisch mit denen von M_2 . Die δ -Werte der 1H -NMR-Signale von M_2 sind bis auf die Linien von 20- H_2 (δ = 4,13 ppm) sowie die olefinischen Protonen (δ = 5,6(H_α), 6,1(H_δ), 6,61(H_β), 7,35(H_γ)) identisch mit denen des 3-O-Deka(2,4,6)-trienoylingenols (6).

Die zweite Gruppe umfaßt insgesamt sechs irritierend nicht wirksame Gemische M_1 , M_3 , M_4 , M_5 , M_7 und M_8 (7), die teils kristallisieren, teils harzig anfallen (vgl. Formelschema). Es handelt sich um Gemische von 3,5,7-Triestern eines neuen, polyfunktionellen Diterpenoids, für das wir den Namen Myrsinol ($1, R^1=R^2=R^3=H$) vorschlagen. Die C-Atome des Myrsinols sind entsprechend dem früheren Vorschlag für Lathyran nummeriert (8). Mit $K_3[Fe(CN)_6]$ zeigen alle Myrsinol-estergemische eine für Acyloine charakteristische (9) tiefblaue Färbung (Partialstruktur A).

Beispielsweise erweist sich M_7 (F_p = 147°C) massenspektrometrisch als ein Gemisch aus Myrsinol-diacetat-hexanoat und -acetat-propionat-valerat ($C_{30}H_{42}O_9$, M^+ 546,2832). Bei m/e 282 entsteht nach Abspaltung der Saurereste und einer Carbonyl-Gruppe ein für diese Esterreihe charakteristisches Schlusselfragment $C_{19}H_{22}O_2$. Das ^{13}C -NMR-Spektrum von M_7 ($CDCl_3$) zeigt vier Acyl-CO-Signale zwischen 169 und 173 ppm. Sie deuten eine statistische Verteilung der vier Acyloxyreste auf C-3, C-5 und C-7 im Gemisch M_7 an. Bei 122,24(d), 134,21(d), 146,94(s) und 113,07(t) ppm erscheinen ferner die Signale von vier sp^2 -C-Atomen der Doppelbindungen C_8-C_9 und $C_{10}-C_{18}$ und bei 203,7 ppm das Singulett einer Carbonyl-Gruppe. Weitere drei quartäre

C-Atome erscheinen als "off-resonance" Singulettts bei 90,52 (C-13), 89,76 (C-15) und 54,70 (C-6) ppm. Die Carbonyl-Gruppe und die zwei Doppelbindungen sind auch im UV(CH₃OH) bei 300 und 195 nm (ϵ = 65 bzw. 13500) und im IR (KBr) bei 3084, 3010, 1740 und 904 cm⁻¹ sichtbar.



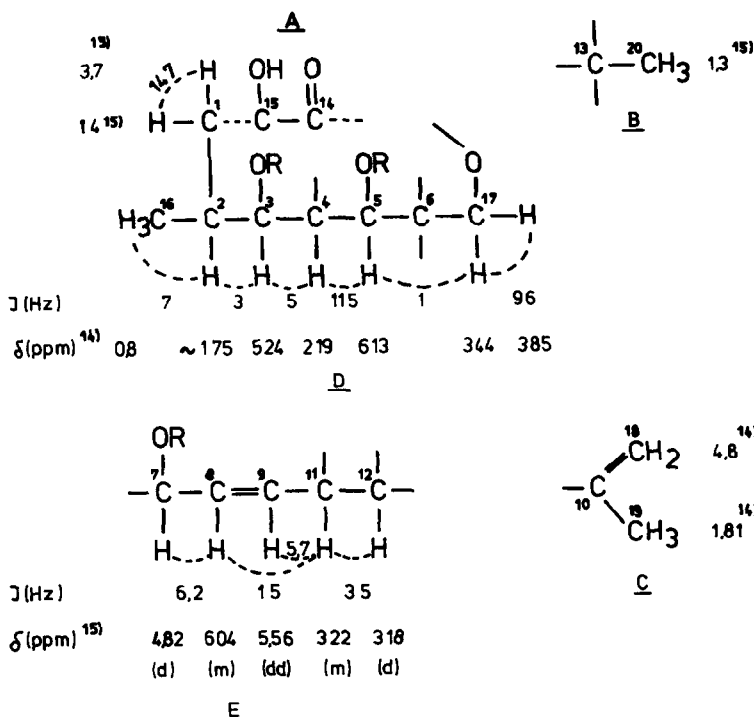
| | | |
|----------------------|--|--|
| <u>M₁</u> | Fp=96°C, R ¹ ,R ² =COCH ₃ ,CO(CH ₂) ₃ CH ₃ R ³ =COC ₅ H ₄ N | und R ¹ ,R ² =COCH ₂ CH ₃ ,CO(CH ₂) ₂ CH ₃ R ³ =COC ₅ H ₄ N |
| <u>M₃</u> | Fp=135°C, R ¹ ,R ² =COCH ₃ ,CO(CH ₂) ₄ CH ₃ R ³ =COC ₅ H ₄ N | und R ¹ ,R ² =COCH ₂ CH ₃ ,CO(CH ₂) ₃ CH ₃ R ³ =COC ₅ H ₄ N |
| <u>M₄</u> | Harz, R ¹ ,R ² =COCH ₃ ,CO(CH ₂) ₅ CH ₃ R ³ =COC ₅ H ₄ N | und R ¹ ,R ² =CO(CH ₂) ₂ CH ₃ ,CO(CH ₂) ₃ CH ₃ R ³ =COC ₅ H ₄ N |
| <u>M₅</u> | Harz, R ¹ ,R ² ,R ³ =COCH ₃ , COCH ₃ ,CO(CH ₂) ₃ CH ₃ | und R ¹ ,R ² ,R ³ =COCH ₂ CH ₃ , COCH ₂ CH ₃ ,COCH ₂ CH ₃ |
| <u>M₇</u> | Fp=147°C, R ¹ ,R ² ,R ³ =COCH ₃ , COCH ₃ ,CO(CH ₂) ₄ CH ₃ | und R ¹ ,R ² ,R ³ =COCH ₃ , COCH ₂ CH ₃ ,CO(CH ₂) ₃ CH ₃ |
| <u>M₈</u> | Harz, R ¹ ,R ² ,R ³ =COCH ₃ , COCH ₃ ,CO(CH ₂) ₅ CH ₃ | und R ¹ ,R ² ,R ³ =COCH ₃ , CO(CH ₂) ₂ CH ₃ ,CO(CH ₂) ₃ CH ₃ |

Ähnlich wie bei M₇ verteilen sich die Acylreste in den übrigen Gemischen. Alle Estergemische lassen sich mit LiAlH₄ in praktisch quantitativer Ausbeute zum Epimerengemisch 14-Desoxy-14-hydroxymyrsinol 2 (β-Epimer, Fp.206°C, [M-H₂O]⁺. 348,1939, C₂₀H₂₈O₅) unter Erhaltung des Myrsinangerustes reaktiv spalten. Dagegen führt die basenkatalysierte Verseifung der Estergemische 1 in quant. Ausbeute zu ein-und demselben iso-Myrsinol, dem Produkt einer α-Ketolumlagerung des Myrsinols (10).

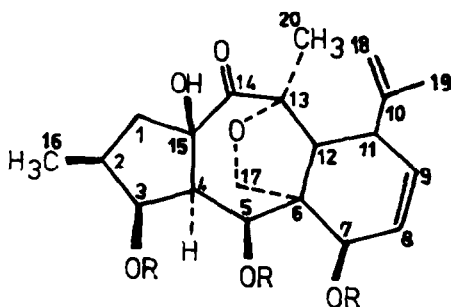
Das ¹³C-NMR-Spektrum von 2 ermöglicht die Zuordnung seiner zwanzig C-Atome als 4 quartare, 10 tertiäre, 3 sekundäre und 3 primäre (CH₃-Gruppen) δ (in CD₃OD). 150,19(s,C-10), 132,71(d,C-9), 128,03(d,C-8), 111,85(t,C-18), 91,51(s,C-13), 83,25(d,C-14), 82,21(s,C-15), 79,22(d,C-7), 69,8(d,C-3), 69,54(t,C-17), 64,66(d,C-5), 56,28(s,C-6), 54,01, 52,84, 43,02, 38,99 (4d,C-12,C-11,C-4,C-2), 37,63(t,C-1), 24,63(q,C-19), 20,67(q,C-20), 15,53(q,C-16) ppm.

Eine schonende, in zwei Stufen mit 1) Ac₂O/Py und 2) Ac₂O/TSOH durchgeführte Acetylierung von 2 liefert das 14-Desoxy-14β-hydroxymyrsinol-3,5,7,14,15-pentaacetat (8) Nach ¹H-NMR-Spektren reagieren die 3-,5-,7- und 14-OH-Gruppen von 2 mit Trichloracetylisocyanat (TAI) (11) in CDCl₃ innerhalb von 10 Min, die tertiäre 15-OH-Gruppe wird erst nach 8 Tagen vollständig carbamoyliert [δ. 8.43,8.78,8.80(3s,5NH)] ppm.

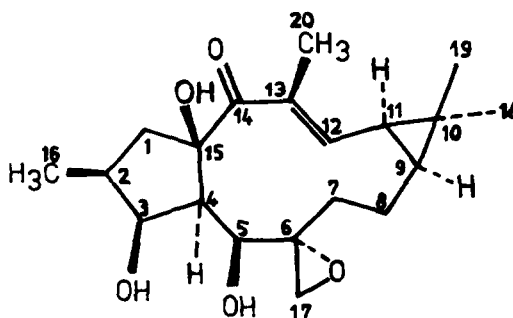
Die Farbreaktion der Estergemische sowie die ¹³C- und ¹H-NMR-Spektren von z.B. M₇ und von 2 sowie Entkopplungsexperimente in verschiedenen Lösungsmitteln ermöglichen die Ableitung der Strukturelemente A-E. Dabei ist die Stereochemie an C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₁₄, und C₁₅ und die Sequenz C₂₀-C₁₃-C₁₄-C₁₅-C₁-C₂-(-C₁₆)-C₃-C₄-C₅-C₆-C₇-C₈ in 1 identisch mit denen der entsprechenden C-Atome in 6,17-Epoxyathyrol(3)(12). Zwischen einer möglichen C₆-C₁₁ und der tatsächlich gegebenen C₆-C₁₂-Ringverknüpfung konnte erst die Röntgenstrukturanalyse entscheiden und die Struktur 1 (R=H) für das Myrsinol eindeutig sichern.



Zur Röntgenstrukturanalyse wurde das 14-Desoxo-14 β -hydroxymyrsinol (2, Fp. 206 $^{\circ}$ C) aus einem Methanol-Wasser-Gemisch (4:1) als farblose, durchsichtige Plattchen der Größe 0.8x0.2x0.1 mm, auskristallisiert. Es lag in der orthorhombischen Raumgruppe $P2_12_12_1$ vor, mit den Zellkonstanten $a = 24.89 \text{ \AA}$ und $b = 11.37 \text{ \AA}$ und $c = 6.41 \text{ \AA}$, Dichte 1.323 g/ccm mit 4 Molekülen in der Elementarzelle.



MYRSINOL-ESTER 1

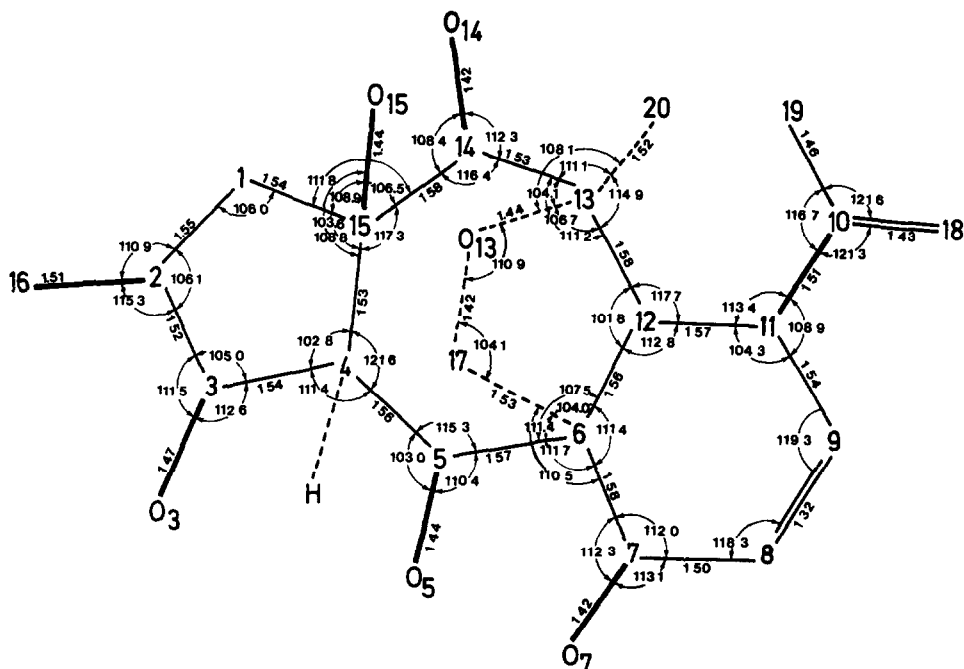


6,17-EPOXY-LATHYROL 3

Mit der Cu-K $_{\alpha}$ -Strahlung wurden 1589 unabhängige Reflexe bis zu einem Winkel von 60 $^{\circ}$ gemessen, wovon 264 nicht beobachtet waren ($\theta/2$ -Abtastung, scan-Breite +0.8, 5-Wert-Messung), und mit Wilson-Statistik skaliert. Die Struktur wurde gelöst mit Hilfe des Programmsystems -MULTAN 74 (13). In drei isotropen und zwei anisotropen Verfeinerungszyklen konvergierte die Struktur bei einem R-Faktor von 9.3% (Bild 1).

Man erkennt aus Bild 1, daß eine tetracyclische Verbindung vorliegt, in der, über einen siebengliedrigen Ring, eine Cyclopentanstruktur mit einer Tetrahydroisobenzofuranstruktur

Bild 1



verknüpft ist. Die Hydroxylgruppe am Cyclopentanring steht pseudoaxial, die Methylgruppe pseudoaquatorial. Die restlichen Substituenten stehen wie folgt: die Hydroxylgruppen an C₅ und C₁₅ pseudoaxial, die Hydroxylgruppe an C₇ axial, die Isopropenylgruppe an C₁₁ aquatorial und die Methylgruppe an C₁₃ pseudoaquatorial. Die Doppelbindung zwischen C₈ - C₉ hat eine normale Bindungsänge von 1,32 Å. Während das Cyclopentan in Umschlag-Konformation vorliegt, bildet der Tetrahydrofuranring ein schiefes (skew) System. Das Cyclohexen liegt in Boot-Konformation vor.

+) Dedicated to Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Georg Wittig on the occasion of his 84th birthday.
 ++) jetzige Adresse: Max-Planck-Institut für medizinische Forschung, Abteilung organische Chemie, Jahnstr. 29, D-6900 Heidelberg.

- (1) Hecker, E., Z. Krebsforschung, 78, 99 (1972)
- (2) Hecker, E. et al. (unpublished results), Kupchan, S. M., Uchida, I., Branfman, A. R., Dailey, R. G., Yu Fei, B., Science 191, 571 (1976).
- (3) Rentzea, M., Diss. Heidelberg (1976)
- (4) Hecker, E., Schmidt, R., Progr. Chem. Org. Nat. Products 31, 377 (1974)
- (5) Rentzea, M. und Hecker, E., J. Cancer Res. and Clin. Oncology (1982) in Vorbereitung
- (6) Opferkuch, H. J. und Hecker, E., Tetrahedron Letters (1974) 261.
- (7) Diese neuen Verbindungen ergaben korrekte Analysen- und spektroskopische Werte.
- (8) Adolf, W. und Hecker, E., Isr. J. Chem. 16, 75 (1977).
- (9) Krischnamurty, H. G. und Sarma, J. S., Indian J. Chem. Ed. 2, 25 (1971).
- (10) Rentzea, M. und Hecker, E., Tetrahedron Letters nachstehend.
- (11) Trehan, I. R., Monder, C., Tetrahedron Letters 67 (1968).
- (12) Zechmeister, K., Rohrl, M., Brandl, F., Hechtfisher, S., Hoppe, W., Hecker, E., Adolf, W. und Kubinyi, H., Tetrahedron Letters (1970) 3071.
- (13) Germain, G., Main, P. und Wolfson, M. M., Acta Cryst., 26, 274 (1970).
- (14) Gemessen im ¹H-NMR-Spektrum von 2 in CDCl₃.
- (15) Gemessen im ¹H-NMR-Spektrum von 7 in C₆D₆.

(Received in Germany 17 September 1981)